

PENGURAIAN KANJI UBIKAYU MENTAH OLEH KULAT
Aspergillus sp.

oleh

Mohamad Roji Sarmidi, Hanapi Mat
Pensyarah
Jabatan Kejuruteraan Kimia, U.T.M., Kuala Lumpur.

dan

Salmah Ibrahim
Jabatan Kejuruteraan Kimia, U.T.M., Kuala Lumpur

ABSTRAK

Kulat berwarna hitam dari genus Aspergillus sp. telah diasingkan dari ladang ubikayu dan aktiviti penguraian kanji oleh enzim yang diekstrak dari kulat tersebut ditentukan. Kulat ini telah dikenalpasti sebagai Aspergillus sp.. Beberapa parameter untuk mengoptimakan keadaan fermentasi ditentukan dengan pengkulturan dalam kelalang bergoncang. Pengasingan enzim dari kultur dijalankan melalui turus kromatografi pertukaran ion DEAE-Sefaros.

Kajian awal ke atas parameter pertumbuhan kulat ini telah dijalankan dan menunjukkan aktiviti enzim glukamilase yang boleh menguraikan kanji mentah adalah tinggi apabila menggunakan kepekatan substrat dan nutrien yang tinggi.

PENGENALAN

Di Malaysia kanji ubikayu merupakan sumber karbohidrat yang boleh didapati dengan banyak dan harga yang murah. Penggunaannya sebagai bahan mentah di dalam industri makanan, kertas dan tekstil merupakan kegunaan utama kanji pada masa ini. Walau bagaimanapun kegunaan kanji di dalam sektor yang lain masih pada tahap minima. Potensi kanji yang lebih meluas hanya akan terserlah apabila kanji menjadi bahan mentah untuk industri kimia dan industri yang berkaitan.

Kanji berupaya menawarkan kemungkinan hasil terbitan yang luas melalui proses pengubahsuaian samada melalui sintesis kimia atau secara biologi. Spektrum hasil terbitan daripada kanji termasuk sebagai substrat penapaian metabolit utama dan sekunder, pembuatan alkil glukosida, glukosida ester, asid glukorik dan lain-lain lagi. Alkil glukosida merupakan bahan perantaraan di dalam pembuatan pengemulsi biorosot dan tak perengsa khusus untuk formulasi kosmetik, farmasi dan bahan permukaan. Sementara asid glukorik merupakan agen antiendapan semula dan kuasa pencuci yang berpotensi sebagai detergen biorosot (Koch, 1988).

Jika dibandingkan dengan selulosa, kanji masih dan tetap akan menjadi pilihan utama sebagai sumber sakarida untuk tahun-tahun yang akan datang. Salah satu faktor utama ialah proses hidrolisis selulosa masih jauh dari optima dan harga selulosa yang bebas dari lignin, lignoselulosa dan

dan bahan permukaan. Sementara asid glukorik merupakan agen antiendapan semula dan kuasa pencuci yang berpotensi sebagai detergen biorosot (Koch, 1988).

Jika dibandingkan dengan selulosa, kanji masih dan tetap akan menjadi pilihan utama sebagai sumber sakarida untuk tahun-tahun yang akan datang. Salah satu faktor utama ialah proses hidrolisis selulosa masih jauh dari optima dan harga selulosa yang bebas dari lignin, lignoselulosa dan hemiselulosa adalah lebih dua kali ganda harga kanji. Pada masa ini harga pasaran dunia selulosa ialah 594-627 ECU (unit matawang Eropah) berbanding harga kanji hanya 250-300 ECU (Rexen, 1988).

Pada masa ini langkah pertama di dalam teknologi penukaran kanji ialah proses hidrolisis kanji di mana glukosa merupakan hasil yang terpenting kerana ianya menjadi paksi pengubahbentukan kepada hasil bernilai tinggi. Penggunaan enzim di dalam proses hidrolis adalah meluas tetapi ruang untuk pengoptimuman masih terbuka luas. Sebagai contoh penggunaan enzim yang lebih berkesan boleh mengarah kepada proses yang lebih ekonomi dan hasil seperti yang dikehendaki. Salah satu cara ialah dengan menggunakan enzim yang mampu menguraikan kanji mentah di mana proses penggelatinan pada suhu tinggi tidak diperlukan.

Penyelidikan yang sedang dijalankan merupakan langkah pertama untuk membangunkan sistem penukaran kanji mentah tanpa melalui proses penggelatinan. Kertas ini menerangkan keputusan awal ujikaji penguraian kanji mentah dengan menumpukan kepada pengoptimuman parameter.

BAHAN DAN KAEDAH

Mikroorganisma

Kulat Aspergillus sp. didapati dari simpanan yang telah diasingkan daripada ubikayu di sekitaran.

Bahan Kimia

Tepung kanji ubikayu dan bahan kimia yang lain didapati secara komersial.

Pengkulturan

Kultur cecair medium asas mengandungi 10% (w/v) tepung kanji yang disterilkan berasingan, 0.75 gram $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0.1g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.15g KH_2PO_4 , 0.3g Na_3PO_4 , 0.1g KCl dan 0.4g ekstrak yis dalam 150 ml air suling, pH 3.5. Spora dan sel vegetatif yang ditumbuhkan di atas PDA diambil dan diinokulat ke dalam medium yang terdapat di dalam kelalang goncangan 250 ml. Pengkulturan dijalankan pada 35°C dengan 200 psm.

Penyediaan Cecair Kultur

12 ml sampel diambil dari tiap kelalang dan diempas pada 6000 psm selama 20 minit dan supernatan diambil sebagai penyediaan ekstrak kasar enzim.

Penghasilan enzim glukamilase

Sampel enzim dilalukan dalam turus kromatografi pertukaran ion DEAE-Sefaros dan dielut dengan penimbal posfat 0.05 M. Fraksi-fraksi dikumpulkan dan fraksi yang mengandungi kepekatan protin yang tinggi diassai untuk menentukan aktiviti protin.

Penentuan aktiviti enzim

Jumlah isipadu tindakbalas enzim substrat untuk pengassaian adalah 3 ml, iaitu terdiri daripada 100 mg kanji mentah yang dimasukkan ke dalam 2.0 ml penimbal sitrat-fosfat 0.05 M, pH 3.5 dan 1 ml sediaan enzim. Ujian kawalan dibuat dengan menggunakan bahan-bahan yang sama kecuali 100 mg kanji diganti dengan 0.1 ml air suling.

Penentuan gula penurun

Ini dilakukan dengan kaedah Asid Dinitrosalisalik (DNS) di mana reagent DNS dicampurkan dengan cecair dari pengassaian dan air suling sebelum dikukus dalam pengukus 100°C selama 15 minit. Nilai penyerapan dibaca pada jarak gelombang 575 nm.

Penentuan protin larut

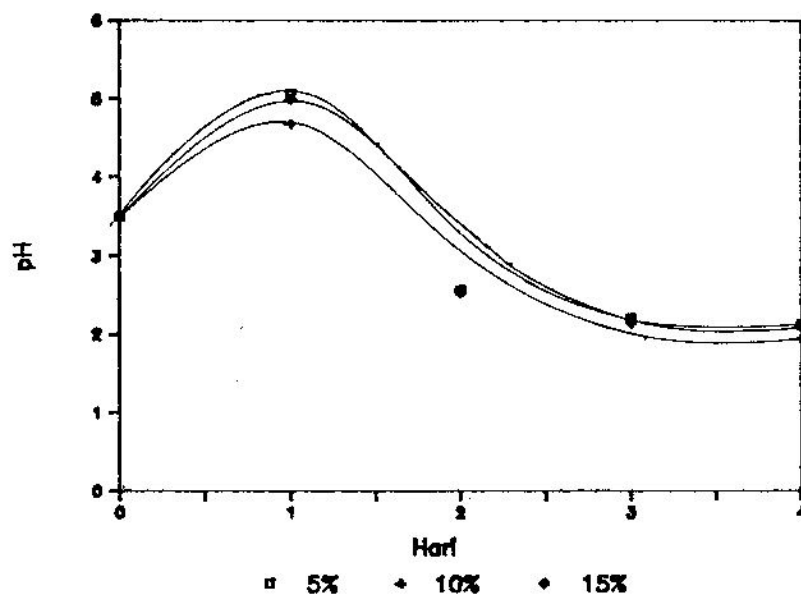
Jumlah protin larut di dalam sampel di tentukan dengan nilai penyerapan pada jarak gelombang 280 nm dengan menggunakan 'Bovine Serum Albumin' sebagai protin piawai.

HASIL DAN PERBINCANGAN

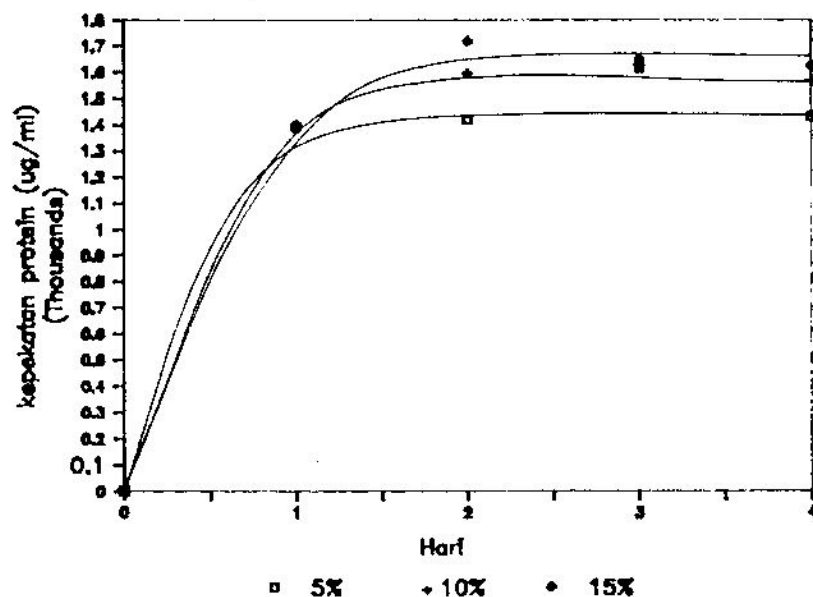
Berdasarkan kaedah yang telah diterangkan di dalam ujikaji awalan ini, tiga kepekatan substrat iaitu 5%, 10% dan 15% (v/v) dan tiga kepekatan garam ammonia sebagai sumber nitrogen atau nutrien telah digunakan untuk pertumbuhan. Parameter pertumbuhan yang lain ditetapkan iaitu suhu pada 35°C, kadar penggoncangan pada 200 pusingan seminit dan pH asal pada 3.5.

Rajah 1-4 menunjukkan perubahan parameter yang dikaji berdasarkan tiga kepekatan substrat yang digunakan di dalam pengkulturan selama 4 hari. Rajah 1 menunjukkan profil perubahan pH berbanding dengan masa di mana terdapat kenaikan pH pada hari pertama selepas penginokulasian. Kenaikan yang ketara ini mencapai ke pH 4.5 hingga 5.0. Pada hari berikutnya pH turun sehingga serendah 2.5 dan terus turun pada hari ke-3 dan ke-4. Profil ini adalah seragam bagi ketiga-tiga kultur yang dikaji.

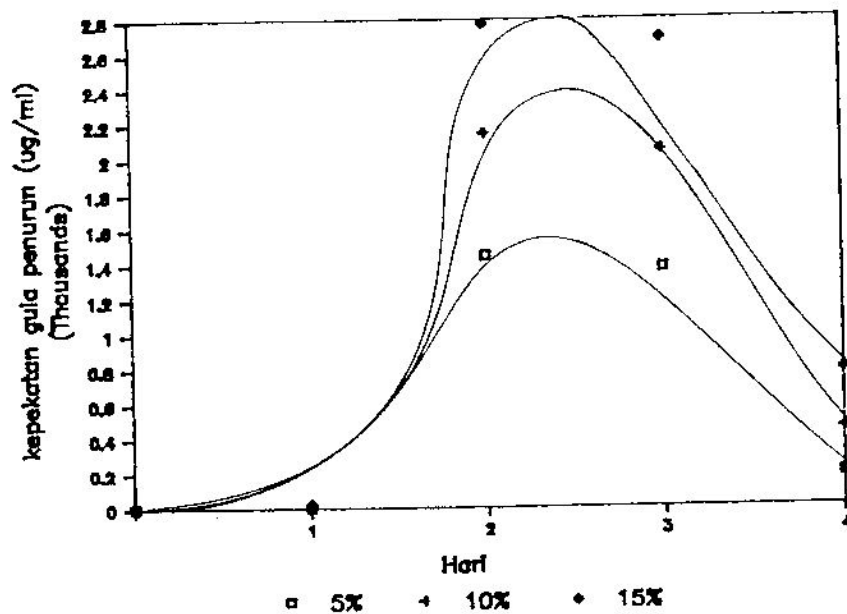
Peningkatan pH semasa pertumbuhan di dalam proses penapaian adalah berkaitan dengan penggunaan ion-ion ammonium sebagai sumber nitrogen dan pembebasan ion-ion hidrogen. Apabila ion-ion ini berkumpul di dalam cecair kultur dan terlarut di dalamnya, pH akan meningkat. Jika lebih banyak ion-ion yang terlarut peningkatan pH akan menjadi lebih ketara. Penurunan pH pada hari berikutnya adalah berkaitan dengan kehadiran bahan metabolit seperti asid sitrik setelah penggunaan glukosa untuk pertumbuhan serta pembebasan gas karbon dioksida semasa pernafasan aerobik (Sternberg,



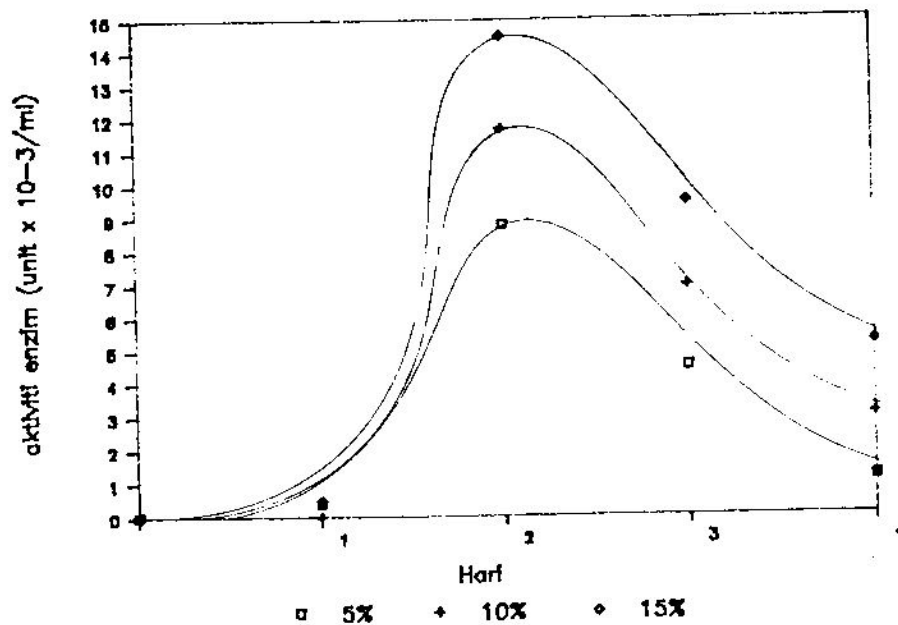
Rajah 1 : Perubahan pH semasa pertumbuhan dengan menggunakan kepekatan substrat yang berbeza.



Rajah 2 : Penghasilan protein semasa pertumbuhan dengan menggunakan kepekatan substrat yang berbeza.



Rajah 3 : Penghasilan gula penurun semasa pengkulturan dengan menggunakan kepekatan substrat yang berbeza.



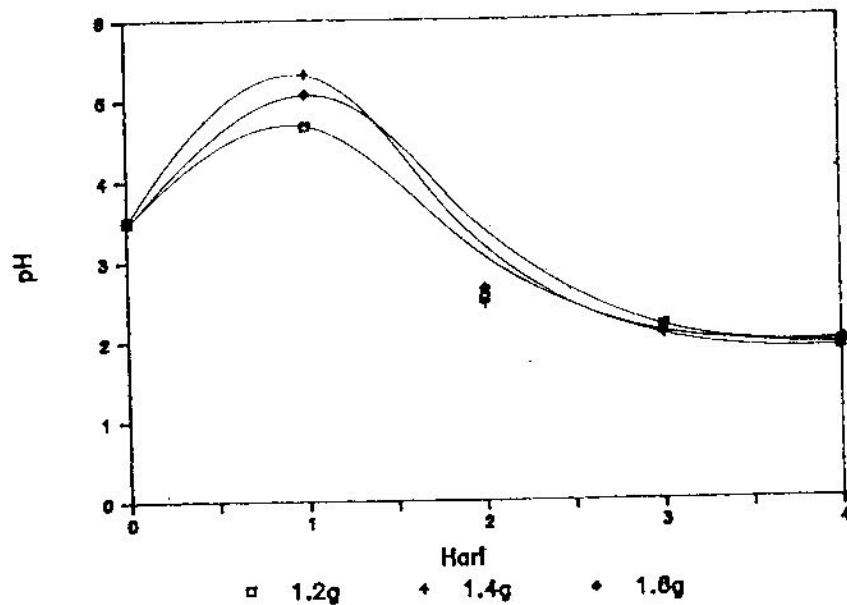
Rajah 4 : Perubahan aktiviti enzim dengan hari pengkulturan bagi kepekatan substrat yang berbeza.

Rajah-rajah 5-8 pula menunjukkan perubahan parameter yang dikaji berdasarkan tiga kepekatan nutrien iaitu garam ammonia yang berbeza iaitu 1.2 g, 1.4 g dan 1.6 g per 150 ml medium pertumbuhan. Pengkulturan dijalankan dalam masa 4 hari dengan parameter-parameter yang lain di tetapkan pada kadar yang sama seperti parameter-parameter untuk pengkulturan menggunakan kepekatan substrat yang berbeza.

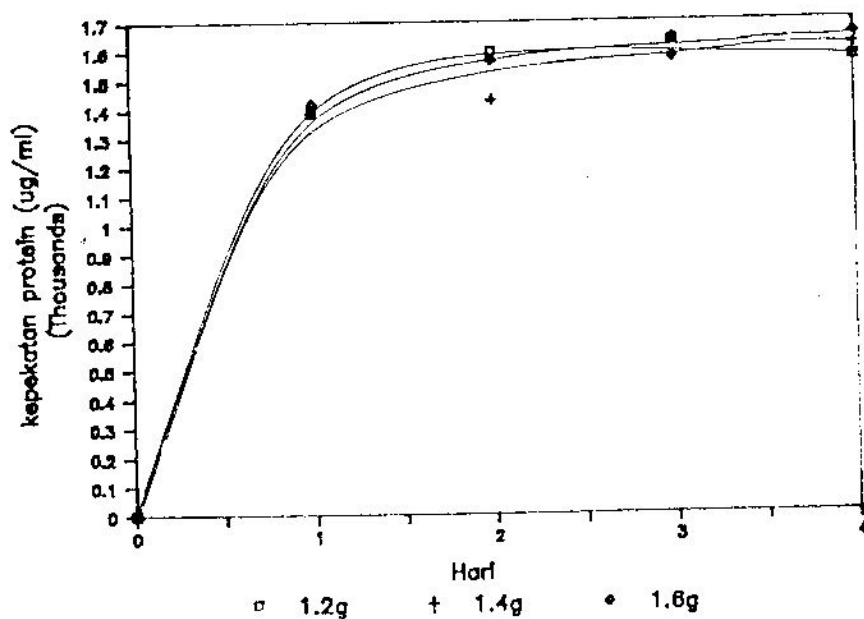
Peningkatan pH juga berlaku di dalam pengkulturan ini dan profil yang ditunjukkan adalah seragam dengan profil rajah 1. pH meningkat pada hari pertama selepas penginokulasian dan menurun pada hari kedua dan hari seterusnya hingga hari keempat. Ketiga-tiga kultur yang mewakili ketiga-tiga kepekatan nutrien tersebut menunjukkan profil perubahan pH yang sekata.

Penghasilan protein larut dalam medium didapati tinggi pada hari ke 2 untuk ketiga-tiga kultur ini dan kandungan protein adalah tetap hingga hari keempat pada kepekatan 1.5 mg/ml. Penghasilan protein yang tinggi ini dijelaskan lagi oleh kehadiran gula penurun dan aktiviti enzim di dalam cecair pertumbuhan. Kandungan gula penurun dan aktiviti tinggi bagi kultur yang menggunakan 1.6 g nutrien. Kandungan gula penurun yang didapati adalah sekitar 1.6 - 2.2 mg/ml dan aktiviti adalah antara 10 - 15 unit $\times 10^{-3}$ /ml. Nilai-nilai ini adalah tinggi jika dibandingkan dengan kajian sebelumnya yang mendapati aktiviti enzim yang boleh menghidrolisis kanji mentah adalah sebanyak 4 unit $\times 10^{-3}$ /ml.

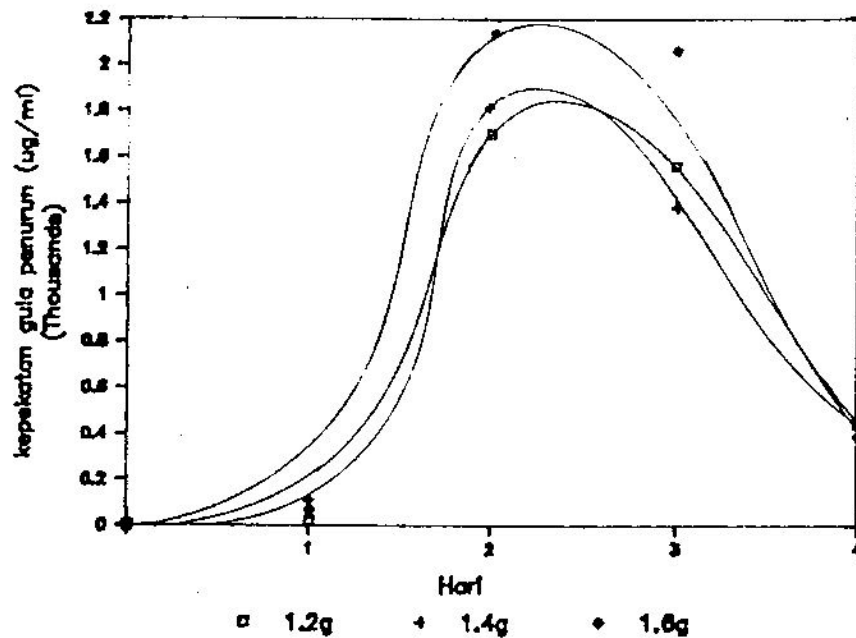
Rajah 9 menunjukkan perubahan pH, penghasilan gula penurun, protein dan aktiviti enzim dalam cecair kultur yang dikaji berdasarkan satu kepekatan nutrien yang ditetapkan dan menggunakan 10 % (v/v) substrat kanji mentah. Rajah ini merumuskan parameter yang dikaji sepanjang 4 hari pengkulturan. Di sini dapat diperhatikan bahawa pada hari pertama, peningkatan pH dan protein berlaku dengan ketara sementara terdapat sedikit sahaja gula penurun di dalam cecair kultur. Aktiviti juga adalah rendah tetapi meningkat pada hari ke-2 ke paras maksima bersama-sama gula penurun.



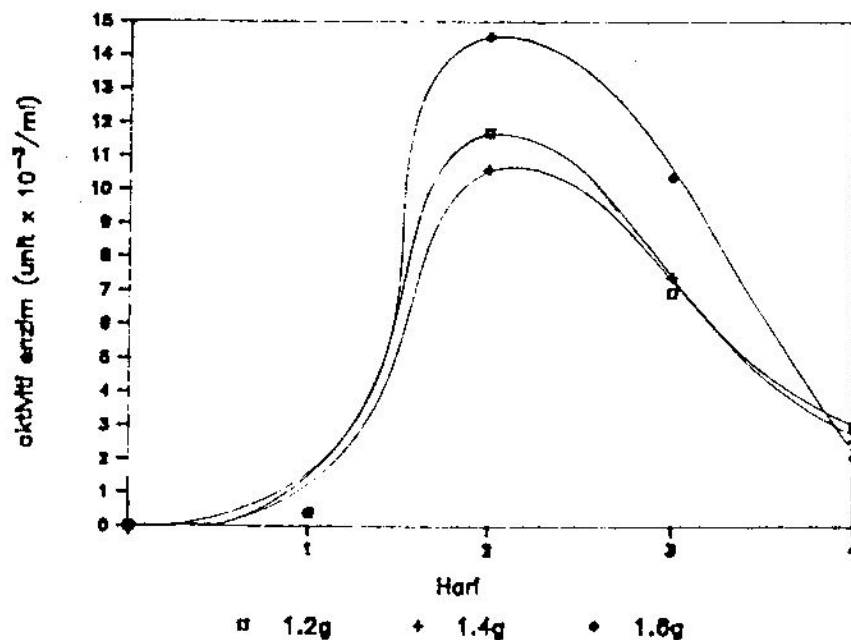
Rajah 5 : Perubahan pH semasa pertumbuhan dengan menggunakan kepekatan nutrien yang berbeza.



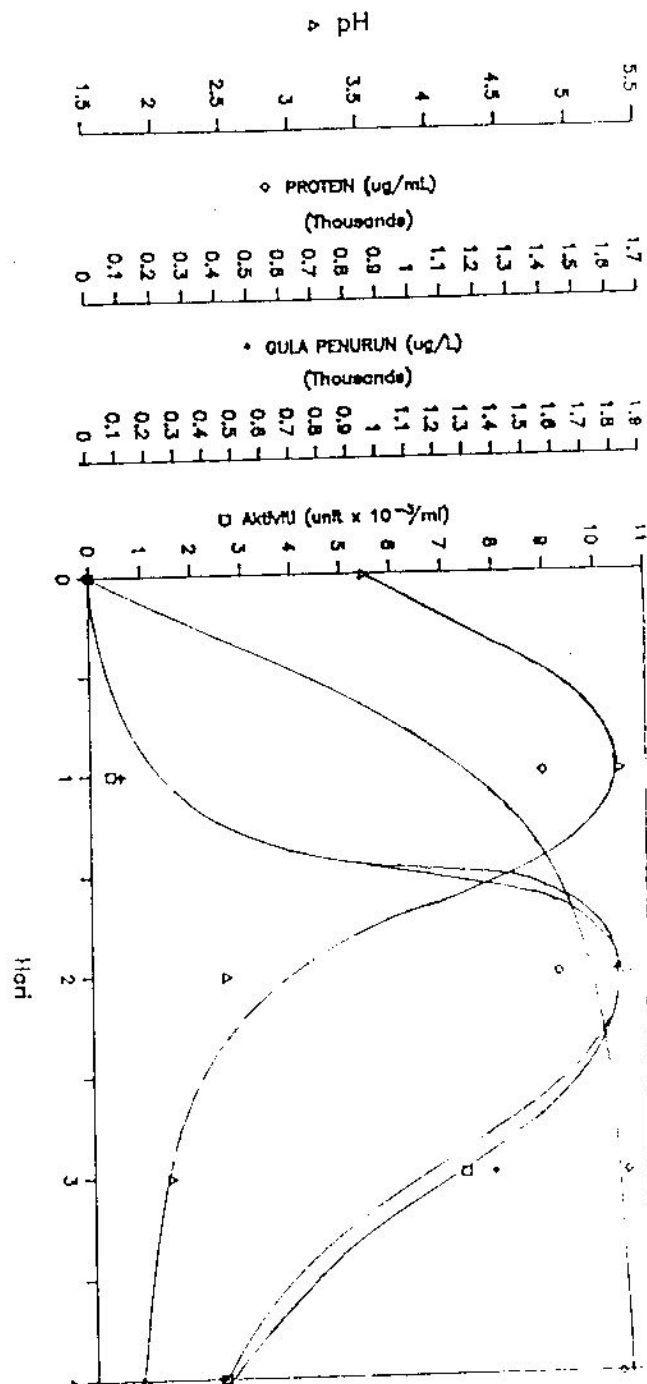
Rajah 6 : Penghasilan protein semasa pertumbuhan bagi kepekatan nutrien yang berbeza.



Rajah 7 : Penghasilan gula penurun dengan menggunakan kepekatan nutrien yang berbeza.



Rajah 8 : Perubahan aktiviti enzim dengan hari pengkulturan bagi kepekatan nutrien yang berbeza.



Rajah 9 : Perubahan aktiviti, penghasilan gula penurun, protein dan pH dengan hari pengkulturan bagi kepekatan nutrien 1.4 g/150ml dan substrat 10 %.

Pada hari yang sama pH menurun dan kandungan gula serta aktiviti enzim turut berkurangan.

KESIMPULAN

Aspergillus sp. UTM.5 mempunyai potensi di dalam menghasilkan enzim yang mampu menguraikan kanji mentah. Enzim yang dihasilkan adalah beraktiviti tinggi dan pengeluaran mencapai tahap maksima dalam masa yang singkat. Ianya juga mampu menggunakan kepekatan substrat yang tinggi.

RUJUKAN

1. Lowry H.,
Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. J. Biol.Chem., 193, 26.
2. Koch H. dan Roper H. 1988. New Industrial Products from starch. Starch, 40 121-131.
3. Koch H. dan Roper H., 1988. New Carbohydrate Derivatives from Biotechnical and Chemical Process. Starch, 40 453-464.
4. Rexen F., Pedersen P.B. dan Munk L., 1988. Exploitation of cellulase and starch polymers from cruds. Tibtech, 6, 204-205.

5. Sternberg, D. 1979. Production of cellulase by Tricoderma. Biotechnology and Bioengineering Symposium 6. 35-53.
6. Swinkels, J.J.M., 1985. Composition and Properties of Commercial Native Starches. Starch, 37, 1-5.
7. Yoshiki, T., Vitchuporn, V. dan Jaroon, K., 1986. Raw cassava starch digestive glucoamylase of Aspergillus sp. N-2 isolated from cassava chips. J. Ferment. Technol., 61, 405-410.